

膿尿・細菌尿検出試験紙の有用性について

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：守殿貞夫教授）

高木 伸介，荒川 創一，松本 修，守殿 貞夫

三田・寺杣泌尿器科

寺杣 一徳，三田 俊彦

USEFULNESS OF DIPSTICK TEST FOR DETERMINING LEUKOCYTES AND BACTERIA IN URINE

Shinsuke Takagi, Soichi Arakawa,

Osamu Matsumoto and Sadao Kamidono

From the Department of Urology, Kobe University, School of Medicine

Kazunori Terasoma and Toshihiko Mita

From the Mita and Terasoma Urological Clinic

The value of a simple dipstick test (BMtestLN, Boehringer Mannheim-Shionogi) for determination of leukocytes and bacteria in urine was examined. This test consisted of detection of esterase, an enzyme present in leukocytes and the nitrate reduced by bacteria. A total of 666 clinical urine specimens were tested with both tests. The evaluation of leukocytes in urine was compared with microscopic examination, and the identification and measurement of strains was performed using a semiquantitative plate culture method as a reference. The leukocyte esterase test had a sensitivity of 85.3%, a specificity of 67.3%, positive predictive value of 54.7% and negative predictive value of 90.8%. The range of the sensitivity value of nitrate test was 25.7% for the detection of bacteriuria (bacteria $\geq 10^4$ CFU/ml). This test had a specificity of 99.6%, positive predictive value of 94.8% and negative value of 82.9%. We concluded that this dipstick test is not useful for determination of the slight change of pyuria, but sensitive for the determination of acute and untreated urinary tract infections.

(Acta Urol. Jpn. 38: 31-36, 1992)

Key words: Pyuria, Bacteriuria, Leukocyte esterase test, Nitrate test

緒 言

尿路感染症診断の指標として，顕微鏡的膿尿と細菌尿の検査は，きわめて診断的価値が高く重要であることは論を持たない．尿沈渣は熟練すれば簡易な検査であるが，一般医家にとって必ずしもルーチン化されているものではない．近年，簡易法として尿中白血球特に顆粒球のエステラーゼ活性を利用して，アゾカップリング反応により尿中白血球数を推定する尿中エステラーゼ試験紙法がある．また，尿中細菌が硝酸塩を亜硝酸塩に還元する能力を利用し，その亜硝酸塩のグリース反応により尿中細菌を検出する亜硝酸塩試験紙も開発されている．今回，われわれはこの二つの原理を応用した試験紙—BM テスト LN® (Boehringer

Mannheim, 塩野義製薬) の有用性を検討した．

対象および方法

1. 尿検体

尿検体は当科および関連施設泌尿器科を受診した外来および一部入院患者由来の 666 検体で，採尿方法を問わず用いた．

2. 尿沈渣法

採尿後 1 時間以内に尿検体約 10 ml をセラピッツ管にとり，1,500 rpm で 5 分間遠心分離した後，沈渣が 0.2 ml になるように上清を除き，その後スポイトで沈渣を良く混和し，約 15 μ l をスライドグラスにのせ，400 倍で検鏡し数視野の白血球数の平均値を算出した．

膿尿の程度は、0～1個/hpf, 2～4個/hpf, 5～9個/hpf, 10～29個/hpf, 30個/hpf～白血球が視野の1/2未満を占める(卅とする), 白血球が視野の1/2以上を占める:(卅とする), の6段階で分類した。

3. 尿培養

尿中細菌培養は採尿後1時間以内の尿を用いバクテック®(塩野義製薬)を用いる dip slide 法にて24時間培養後、菌数測定および菌種同定をおこなった。

4. 白血球エステラーゼ試験および亜硝酸塩試験

白血球エステラーゼ試験および亜硝酸塩試験は、BM テスト LN®(Boehringer Mannheim, 塩野義製薬)を用い、採尿後1時間以内に使用説明書に従って行い肉眼的に判定した。白血球数の判定は説明によれば色彩の違いにより、陰性、約10～25個/ μ l, 約75個/ μ l, 約500個/ μ l の4段階で判断するようにしているが、今回の検討ではその中間も判定し、陰性、約10～25個/ μ l, 約25～75個/ μ l, 約75個/ μ l, 約75～500個/ μ l, 約500個/ μ l の7段階に判定した。細菌の有無は陰性または陽性の2段階に判定した。

結 果

1. 尿中エステラーゼ試験紙と沈渣白血球数との関係 (Table 1)

現在、沈渣法の1個/視野(400倍検鏡)の白血球数は理論上一般的な沈渣法〔尿量10ml, 沈渣0.2ml(200 μ l), 標本量15 μ l〕でも、誤差はかなり大きいと考えられる。この点、竹広¹⁾の報告では400倍の検

鏡下で1個/視野(hpf)=2.7個/ μ lとしている。これを適用して、試験紙の結果(単位:個/ μ l)を理論上の400倍検鏡下の数値(単位:個/hpf)に換算し沈渣法の結果と対比させ検討した。

①白血球エステラーゼ試験陰性群

試験紙で陰性と判定した検体337例中、沈渣法でも陰性(0～1個/hpf)と判定したものは232例(68.8%), 2～4個/hpfと判定したものは74例(22.0%), 5個/hpf以上は31例(9.2%)であった。

②約10～25個/ μ l 群

試験紙で約10～25個/ μ l(沈渣法に換算して約4～9個/hpf)と判定した検体126例中、沈渣法で0～1個/hpfは62例(49.2%), 一致する範囲である2～9個/hpfは51例(40.5%), 10個/hpf以上は13例(10.3%)であった。

③約25～75個/ μ l 群

試験紙で約25～75個/ μ l(沈渣法に換算して約10～28個/hpf)と判定した検体38例中、沈渣法で一致する範囲にある5～29個/hpfは9例(23.7%)であり、4個/hpf以下が24例(63.0%), 30個/hpf以上は5例(12.2%)であった。

④約75個/ μ l 群

試験紙で約75個/ μ l(沈渣法に換算して約28個/hpf)と判定した検体46例中、沈渣法に一致する範囲である10～29個/hpfは7例(15.2%)であり、9個/hpf以下が27例(66.0%), (卅)以上は12例(26.1%)であった。

Table 1. 白血球エステラーゼ試験成績と沈渣中白血球数

同検体の 沈渣中白血球数		白血球エステラーゼ試験の結果						計
		個/ μ l 陰性	約10～25 陰性	約25～75 約4～9	約75 約10～28	約75～500 約28	約500 約28～185	
沈 渣 法	0～1個/hpf	232 (68.8%)	62 (49.2%)	13 (34.2%)	12 (26.8%)	2 (3.8%)	3 (4.5%)	324
	2～4個/hpf	74 (22.0%)	33 (26.2%)	11 (28.8%)	4 (15.3%)	6 (11.3%)	3 (4.5%)	131
	5～9個/hpf	23 (6.8%)	18 (14.3%)	3 (7.9%)	11 (23.9%)	10 (18.9%)	5 (7.6%)	70
	10～29個/hpf	8 (2.4%)	10 (7.9%)	6 (15.8%)	7 (15.2%)	16 (30.2%)	29 (43.9%)	76
	卅 30個/hpf～ 視野の1/2未満	0	3 (2.4%)	5 (12.2%)	8 (17.4%)	11 (20.8%)	16 (24.2%)	43
	卅 ⁺ 白血球が視野の1/2以上の 面積を占める	0	0	0	4 (8.7%)	8 (15.1%)	10 (15.2%)	22
計		337 (100%)	126 (100%)	38 (100%)	46 (100%)	53 (100%)	66 (100%)	666

* : 白血球エステラーゼ試験の結果を沈渣法の単位に換算した結果

数値 : 例数

 : 理論上白血球エステラーゼ試験と沈渣法が一致する範囲

Table 2. 白血球エステラーゼ試験成績と沈渣中白血球数

		白血球エステラーゼ試験		
		(-)	約10個/ μ l 以上	計
沈渣中白血球数 (個/hpf)	< 5	306	149	455
	≥ 5	31	180	211
	計	337	329	666

感 度 = 陽性 / (陽性 + 偽陰性) $\times 100 = 180 / 211 \times 100 = 85.3 (\%)$

特異度 = 陰性 / (陰性 + 偽陽性) $\times 100 = 306 / 455 \times 100 = 67.3 (\%)$

陽性期待率 = 陽性 / (陽性 + 偽陽性) $\times 100 = 180 / 329 \times 100 = 54.7 (\%)$

陰性期待率 = 陰性 / (陰性 + 偽陰性) $\times 100 = 306 / 337 \times 100 = 90.8 (\%)$

一 致 率 = (陽性 + 陰性) / (陽性 + 偽陽性 + 陰性 + 偽陰性) $\times 100$
 $= (306 + 180) / 666 \times 100 = 73.0 (\%)$

Table 3. 亜硝酸塩試験成績と尿中細菌数

菌量(cfu/ml)	判 定		計
	陰 性	陽 性	
陰 性	16	0	16
< 10 ³	444	1	445
10 ³	58	1	59
10 ⁴	41	0	41
10 ⁵	29	3	32
10 ⁶	15	8	23
$\geq 10^7$	22	26	48
計	625	39	664

数値 : 例数

⑤約75～500個/ μ l 群

試験紙で約75～500個/ μ l (沈渣法に換算して約28～185個/hpf) と判定した検体53例中, 沈渣法で一致する範囲である10個/hpf～(++)は27例 (51.0%), 9個/hpf以下が18例 (34.0%) であり, (++)検体は8例 (15.1%) であった。

⑥約500個/ μ l 群

試験紙で約500個/ μ l (沈渣法に換算して約185個/ μ l) と判定した検体66例中, 沈渣法に一致する範囲である(++)～(+++)は66例中26例 (39.4%), 29個以下/hpfは40例 (60.6%) であった。

2. 白血球エステラーゼ試験の感度 (Table 2)

以上の結果をまとめると, 尿沈渣は白血球数5個/hpf以上, 試験紙判定は約10個/ μ l以上を陽性とした場合の感度は85.3% (180/211), 特異性67.3% (306/337), 陰性期待率90.8% (306/337), 陽性期待率54.7% (180/329), 陽性一致率73.0% (306+180/666) であった。

3. 亜硝酸塩試験と尿中細菌数 (Table 3)

尿中細菌数 10⁴ cfu/ml 以下の561検体中, 亜硝酸塩試験が陽性を示した検体はわずか2例 (0.4%) で, 10⁵ cfu/ml の32例中3例 (9.4%), 10⁶ cfu/ml の23例中8例 (34.8%), 10⁷ cfu/ml 以上の48例中26例

(52%) であった。

しかし逆に, 亜硝酸塩試験で陽性と判定された39例中37例 (94.9%) は, 尿中細菌数が 10⁵ cfu/ml 以上であった。

4. 亜硝酸塩試験と尿中分離菌種 (Table 4)

尿中分離菌数 10⁵ cfu/ml 以上であった103例における, 分離菌種と亜硝酸塩試験との関係を検討した。10例中, 亜硝酸塩試験陽性例は37例 (35.2%) であった。分離菌種はグラム陽性菌が4菌種15株, グラム陰性菌が17菌種84株および真菌4株であった。グラム陽性菌の亜硝酸塩試験陽性率は13%, グラム陰性菌は42%, 真菌は0%であった。

5. 亜硝酸試験の感度 (Table 5)

以上の結果をまとめると, 尿培養の結果を菌数 10⁴ cfu/ml 以上と未満で区切った場合の感度は25.7% (37/144), 特異性99.6% (518/520), 陰性期待率82.9% (518/625), 陽性期待率94.8% (37/39), 陽性一致率83.6% (518+37/664) であった。

考 察

尿路感染症の診断は, 膿尿, 細菌尿, 臨床症状および血液学的検査などの所見を総合しておこなわれるが, 通常の臨床の場合では, 検尿による膿尿, 尿培養の

結果をあとで知るといのが一般的である。この手順を考えると今回検討した尿中エステラーゼ試験紙と亜硝酸塩試験紙は膿尿と細菌尿の存在を試験紙を尿に浸して1〜2分で判断するものである。

今回の白血球エステラーゼ試験の検討では本試験紙の陰性例の90.8%が沈渣法で4個/hpf以下であり、陰性一致率は高い。しかし約10〜75個/ μ lの範囲では沈渣法での微妙な白血球数に一致しているとはいえなかった。約75〜500個/ μ lの範囲でも沈渣法の高度膿尿群つまり(++)〜(+++)に入るものが多かったものの、30個/hpf未満の検体も多く、両者の一致性は低かった。三木ら²⁾によると、臨床分離の非遠心尿のグラム染色標本の弱拡大(100倍)の検鏡にて、各視野に平均1個以上の多核白血球がみられたものを膿尿陽性とした場合の試験紙の感度は91.3%、特異度は97.6%と非常に優れた成績となっている。これに対しわれわれの成績を沈渣中白血球数5個/hpf以上を膿尿陽性とし、試験紙法10〜25個/ μ l以上を膿尿陽性と判定した場合の感度は85.3%、特異度は67.3%であり、特に特異度に問題があるように思われた。特異度が低い原因としては尿自体の色調のために陰性の検体でも10〜25個/ μ lと判定された検体が多いためと考えられ、今後色調現出の改善が望まれる。

今回採用した6段階の膿尿の分類は泌尿器科医が尿路感染における薬効評価基準において用いているものである³⁾。そのため本試験紙では膿尿の微妙な改善度を表現できないということになる。さらに陽性期待率が54.7%であることは、白血球エステラーゼ試験で膿尿の程度が約10個/ μ l以上の検体でも、沈渣法では5個/hpf以上の膿尿である期待率は54.7%ということである。

沈渣法および試験紙法に影響する因子の一つとして経時的な好中球破壊が考えられるが、今回の検討はほとんど採尿後1時間以内に施行されており、その影響は

小さいものと考えられる。

また、白血球エステラーゼ試験は細菌尿、尿pH、浸透圧および尿中赤血球によっては影響されないが、高度の蛋白尿、尿中アスコルビン酸およびある種の抗生剤(ゲンタマイシン、セフェム系薬剤)により反応

Table 4. 細菌別の亜硝酸塩試験成績

分 類	培養菌数 (cfu/ml)	症例数	亜硝酸塩試験陽性率
グラム陽性菌	<i>S. aureus</i>	10^3	1 0% (0/1)
		10^5	5 0% (0/5)
	<i>S. epidermidis</i>	10^4	1 0% (0/1)
		$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
	<i>E. faecalis</i>	10^3	1 0% (0/1)
グラム陰性菌		10^4	2 0% (0/2)
		$\geq 10^5$	3 67% (2/3)
	<i>Bacillus sp.</i>	$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
	小 計	15	13% (2/15)
グラム陰性菌	<i>Acinetobacter spp.</i>	$\geq 10^5$	1 100% (1/1)
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	10^3	1 0% (0/1)
		10^5	6 33% (2/6)
	<i>C. freundii</i>	10^4	2 50% (1/2)
		$> 10^5$	9 67% (6/9)
	<i>E. aerogenes</i>	10^3	2 50% (1/2)
		$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
	<i>E. cloacae</i>	$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
		10^3	4 0% (0/4)
	<i>E. coli</i>	10^4	6 50% (3/6)
		$\geq 10^5$	11 73% (8/11)
	<i>Flavobacterium spp.</i>	10^3	1 0% (0/1)
		$\geq 10^5$	1 100% (1/1)
	<i>Klebsiella spp.</i>	10^3	3 0% (0/3)
		$\geq 10^5$	8 13% (1/8)
		10^3	1 100% (1/1)
	<i>P. aeruginosa</i>	10^3	6 50% (3/6)
		$\geq 10^5$	7 71% (5/7)
	<i>P. putida</i>	10^3	2 0% (0/2)
		10^4	1 0% (0/1)
	<i>Pseudomonas spp.</i>	10^3	1 0% (0/1)
		10^4	1 0% (0/1)
	<i>Providencia rettgeri</i>	10^3	1 0% (0/1)
		$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
	<i>P. mirabilis</i>	10^3	1 0% (0/1)
	<i>P. vulgaris</i>	$\geq 10^5$	1 100% (1/1)
	<i>S. marcescens</i>	10^3	1 100% (1/1)
	<i>Serratia spp.</i>	10^3	1 0% (0/1)
		$\geq 10^5$	1 0% (0/1)
	<i>X. maltophilia</i>	10^4	1 0% (0/1)
	小 計	84	42% (35/84)
真菌	<i>Y.L.O.</i>	10^3	2 0% (0/2)
		10^4	2 0% (0/2)
	小 計	4	0% (0/4)
計		103	35% (37/103)

Table 5. 亜硝酸塩試験成績と尿中細菌数

	亜硝酸塩試験		
	陰 性	陽 性	計
尿中細菌量 (cfu/ml)	$< 10^4$	518	2
	$\geq 10^4$	107	37
	計	625	39
			664

$$\text{感 度} = \text{陽性} / (\text{陽性} + \text{偽陰性}) \times 100 = 37 / 144 \times 100 = 25.7 (\%)$$

$$\text{特異度} = \text{陰性} / (\text{陰性} + \text{偽陽性}) \times 100 = 518 / 520 \times 100 = 99.6 (\%)$$

$$\text{陽性期待率} = \text{陽性} / (\text{陽性} + \text{偽陽性}) \times 100 = 37 / 39 \times 100 = 94.8 (\%)$$

$$\text{陰性期待率} = \text{陰性} / (\text{陰性} + \text{偽陰性}) \times 100 = 518 / 625 \times 100 = 82.9 (\%)$$

$$\text{一 致 率} = (\text{陽性} + \text{陰性}) / (\text{陽性} + \text{偽陽性} + \text{陰性} + \text{偽陰性}) \times 100 \\ = (518 + 37) / 664 \times 100 = 83.6 (\%)$$

Table 6. 白血球エステラーゼ試験と亜硝酸塩試験の結果のまとめ

白血球エステラーゼ試験 (尿中白血球数)		
亜硝酸塩試験 (尿中細菌の存在)	約10個/μl未満	
	約10個/μl以上	
	陰性	陽性
	沈渣法で検査した場合、白血球が5個/hpf未満である期待率は90.8%と高く、尿中細菌数が 10^4 cfu/ml未満である期待率は82.9%であった。	沈渣法で検査した場合、白血球が5個/hpf以上である期待率は54.7%と低いが、尿中細菌数が 10^4 cfu/ml未満である期待率は82.9%であった。
	陽性	陰性
	沈渣法で検査した場合、白血球が5個/hpf未満である期待率は90.8%と高く、 10^4 cfu/ml以上の細菌尿である期待率は94.8%であった。	沈渣法で検査した場合、白血球が5個/hpf以上である期待率は54.7%と低いが、 10^4 cfu/ml以上の細菌尿である期待率は94.8%であった。

が阻害されとの報告がある^{4,5)}。今回のわれわれの尿検体は複雑性尿路感染症患者のものが多く、すでに抗菌薬が投与されているものもあり、そのため今回の試験法の成績にばらつきがあったとも考えられる。

沈渣法も手技的にかなり誤差が大きき⁶⁾、試験紙の結果を沈渣法の結果と比べるのは、沈渣法の誤差が大きすぎて妥当な検討法ではないかもしれない。しかし、臨床では尿路感染症の診断の根拠として沈渣による膿尿の存在に重きを置いていることから、その意義は大きいと考えられる。

亜硝酸塩試験については尿培養の結果が 10^4 cfu/ml以上を陽性とした今回の検討において、感度(陽性率)25.7%、特異度99.6%と感度に問題があるように思われた。また 10^7 cfu/ml以上の細菌尿であってもその陽性率は54%と低かった。三木ら²⁾は 10^5 /ml以上の細菌尿における亜硝酸塩試験陽性率は64%と報告しており自験例はそれより1管少ない菌数であるのかかわらず、三木らより劣った成績であった。このことは亜硝酸塩試験陽性の条件として尿が膀胱内に4時間以上滞留している必要性があり⁷⁾、今回われわれの用いた検体は一部を除き早朝尿ではなく来院時尿を用いたためと考えられる。

亜硝酸塩試験において、腸球菌類と真菌は硝酸塩を還元しないことが知られているが⁸⁾ 今回の結果では 10^7 cfu/ml以上の *E. faecalis* 3株のうち2株が亜硝酸塩試験陽性となっており、腸球菌以外の複数感染菌の潜在が示唆される結果であった。また真菌は4株すべて陰性であり真菌尿がこの試験紙では判定できないことを裏付ける結果であった。また尿中アスコルビン酸や異常量の尿中ウロビリノーゲンの存在および尿のpHが6未満である時に偽陽性が現れることが報告されており⁹⁾、本試験は多くの条件に左右されるものといえる。しかし今回の検討で陽性の場合、 10^4

cfu/ml以上の細菌尿である陽性期待率は94.8%(37/39)と高く、本試験紙で陽性の場合細菌尿と判定できると考えられる。

以上より、白血球エステラーゼ試験と亜硝酸塩試験を組み合わせた結果の考え方を Table 6 に示す。白血球エステラーゼ試験の陽性期待率と亜硝酸塩試験の陰性期待率が低いことが問題点である。つまり本法による尿路感染症スクリーニングは沈渣法に比べ迅速性、簡易性の面から有用であるが、微妙な尿路感染症の動きを知るには十分ではない。しかし新鮮な典型的な尿路感染症をスクリーニングする補助診断としては有用と思われた。

結 語

外来患者の随時尿を中心に、膿尿・細菌尿検出における白血球エステラーゼ試験と亜硝酸塩試験が組み合わされた BM テスト LN 試験紙の臨床的検討を行い、以下の結論を得た。

1. 尿沈渣白血球数5個/hpf以上に対する尿中エステラーゼ試験の感度は85.3%、特異性67.3%、陰性期待率90.8%および陽性期待率54.7%であった。
2. 尿沈渣の白血球数の程度に対して尿中エステラーゼ試験の結果はばらつきが大きく、膿尿の微妙な動きを知るには不適當であった。
3. 10^7 cfu/ml以上の細菌尿に対する亜硝酸塩試験の陽性率は52%であった。
4. 尿中細菌数 10^4 cfu/ml以上の細菌尿に対する亜硝酸塩試験の感度は25.7%、陰性期待率82.9%、陽性期待率は94.8%であった。

以上より、本試験紙の尿中エステラーゼ試験は尿路感染症の微妙な膿尿の動きをとらえるには有用ではないが、未治療の典型的な尿路感染症の補助診断としては有用であると考えられた。

文 献

- 1) 竹広妙子, 根本啓子, 桂 秀昭, ほか: エステラーゼ活性を利用した尿中白血球測定法の臨床的検討. 機器・試薬 **8**: 305-310, 1985
- 2) 三木寛二, 笹倉新平, 吉崎悦郎, ほか: BM テスト LN 気による尿路感染症の迅速スクリーニング. 最新検査 **5**: 287-291, 1987
- 3) Kusumi RK, Grover PJ and Kumin CM: Rapid detection of pyuria by leukocyte esterase activity. JAMA **245**: 1653-1655, 1981
- 4) Sawyer KP and Stone LL: Evaluation of a leukocyte dip-stick test used for screening urine culture. J Clin Microbiol **20**: 820-821, 1984
- 5) 五十嵐すみ子, 長浜大輔, 埜 勇至, ほか: 尿沈渣作製手技が成績に及ぼす差異について. 衛生検査 **26**: 1132-1140, 1977
- 6) Jill EC, Marie TP and Kenneth LV, et al.: Laboratory diagnosis of urinary tract infection. Cumitech **24**: 1-15, 1987

(Received on February 27, 1991)
(Accepted on April 11, 1991)